7ª JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DO IFSULDEMINAS
4ª SIMPÓSIO DE PÓS-GRADUAÇÃO
12 de novembro de 2015 | Poços de Caldas - MG

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS, FRAÇÕES E COMPOSTO ISOLADO DE *Euphorbia cotinifolia*

Francielle P. REZENDE[1]; Kamilla T. PEREIRA[2]; Marcos J. MARQUES[3]; Daniela A. C. de PAULA[4]; Ingridy S. RIBEIRO[5]

RESUMO

O aumento da resistência a antimicrobianos têm levado pesquisadores a buscarem novas moléculas bioativas provenientes de produtos naturais. Há poucos relatos na literatura sobre a atividade antimicrobiana de folhas de *Euphorbia cotinifolia*. Sendo assim, objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antimicrobiana de seu extrato bruto, frações e composto isolado. Foi possível obter extrato, frações e composto isolado (galato de etila) com atividade antimicrobiana contra *M. luteus* e *S. aureus*.

INTRODUÇÃO

Atualmente, tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. É crescente a conscientização em torno do grande potencial benéfico que os compostos naturais trazem aos seres humanos, principalmente no que diz respeito à atividade antimicrobiana.

O aumento da resistência aos antimicrobianos disponíveis tem atraído a atenção da comunidade científica para investigar novas drogas eficazes de origem

1 Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas. Alfenas/MG. E-mail: fran_rezendeff@hotmail.com
2 Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas. Alfenas/MG. E-mail: kamilla.teles@yahoo.com.br
3 Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas. Alfenas/MG. E-mail: marques.prppg@gmail.com
4 Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas. Alfenas/MG. E-mail: daniapchpa@gmail.com
5 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho /MG. E-mail: ingridy.ribeiro@muz.ifsuldeminas.edu.br

natural (BITU et al., 2012). Na seleção de novos compostos é desejável que eles tenham atividade em baixas concentrações, sejam de fácil aplicação e estáveis nas condições de processamento e armazenamento. Além disso, o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no medicamento (DEPEINT et al., 2002).

Euphorbia cotinifolia é uma arbusto perene com ramos lenhosos e delicadas folhas ovais e com seiva leitosa e pequenas flores. As folhas mais velhas são bordô escuro, enquanto a folhagem nova tem um tom vermelho brilhante (BAILEY, 1949). Já foi utilizada para cauterizar feridas e é dada como um purgante em pequenas doses (MORTAN, 1962). Jayalakshmi et al. (2011) relataram atividade antimicrobiana de *E. cotinifolia* contra bactérias fitopatogênicas. O estudo fitoquímico das diferentes frações bioativas demonstrou a presença de flavonóides, terpenóides, taninos e esteróides. Algumas plantas do gênero *Euphorbia* têm sido utilizadas no tratamento popular de doenças de pele, verrugas, gonorréia, enxaqueca e parasitas intestinais (SINGLA; PATHAK, 1990).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Euphorbia cotinifolia* bruto, suas frações e composto isolado.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das folhas de *Euphorbia cotinifolia* foi feita no município de Pouso Alegre-MG. Para a preparo do extrato bruto, foram pesados 10 g das folhas trituradas e solubilizadas em 200 mL de etanol 80% (v/v). O tempo de extração foi de 7 dias, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O extrato foi filtrado em papel de filtro e concentrado a 45ºC, em rotaevaporador.

Em seguida, o extrato bruto foi submetido à partição líquido-líquido com hexano, acetato de etila e água em funil de separação. A fração Acetato de Etila foi purificada em cromatografia em coluna flash, obtendo-se assim o composto isolado, que posteriormente foi identificado como galato de etila, por cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada a espectrometria de massas.

A atividade antimicrobiana foi avaliada de acordo com CLSI (2005) contra os microrganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Micrococcus luteus* (ATCC *9341), Bacillus cereus (*ATCC 11778*), Salmonella tiphymurium* (ATCC 0028) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). O método utilizado foi a Concentração Inibitória

Mínima por microdiluição em placa (CIM), em caldo BHI. A leitura do resultado foi realizada por meio da adição de resazurina (0,01%). Em seguida, as concentrações consideradas inibitórias foram submetidas ao teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM), pelo cultivo em meio ágar BHI.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível observar que tanto o extrato bruto quanto as frações e composto isolado apresentaram atividade antimicrobiana (Tabela 1). Os microrganismos *Bacillus cereus* e *E. coli* mostraram-se resistentes às amostras testadas. O extrato bruto foi eficiente contra *M. luteus* e *S. tiphymurium*. A fração hexânica não demonstrou atividade inibitória nas concentrações testadas. A fração acetato de etila apresentou CIM de 31,25 µg/mL contra *S. aureus*. O composto isolado da fração acetato de etila, denominado de galato de etila, apresentou atividade contra *M. luteus* e *S. aureus.* A ação inibitória do composto isolado foi mais eficiente que o extrato bruto para *M. luteus*.

Tabela1. Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato bruto de *Euphorbia cotinifolia*, frações e composto isolado, em µg/mL

Amostra	*M. luteus*	*S. aureus*	*B. cereus*	*S. tiphymurium*	*E. coli*
Extrato bruto	250	-	-	250	-
Fração Hexano	-	-	-	-	-
Fração Ac. Etila	-	31,25	-	-	-
Fração Aquosa	-	1000	-	-	-
Galato de Etila	125	1000	-	-	-

- atividade não detectada nas concentrações utilizadas

Para a Concentração Bactericida Mínima (CBM), somente o composto isolado galato de etila apresentou atividade, contra *Micrococcus luteus, a 125* µg/mL.

Segundo Holets et al. (2002), extratos que apresentarem CIM menores que 100 µg/mL, podem ser considerados com boa atividade antimicrobiana, CIM entre 100 – 500 µg/mL, moderadamente ativos, entre 500 – 1000 µg/mL são pouco ativos e maior de 1000 µg/mL, são considerados como substâncias inativas.

Ribeiro et al. (2014), avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos de caule, raiz, fruto e folha de *Euphorbia cotinifolia*. Dentre os microorganismos

testados, as bactérias *Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis* mostraram-se sensíveis. *M. luteus* foi o mais sensível, apresentando halos entre 15 a 20 mm. Pelo método de microdiluição em placa o microrganismo mais sensível foi *M. luteus* sendo que os valores de CIM estiveram abaixo de 6,25 mg/mL.

O composto isolado galato de etila (Figura 1), é um composto fenólico encontrado naturalmente em um grande número de espécies de plantas entre as quais se destacam: *Phyllanthus urinaria* (SANTOS et al., 1999), *Pistacia integerrima* (MEHLA et al., 2013*), Lagerstroemia speciosa* (GAO et al., 2010), *Alchornea trewioides* (QIN et al., 2012), *Hamamelis virginiana* (KOSTALOVA et al., 2001) e também no vinho tinto onde são encontrados em abundância compostos fenólicos entre estes os galatos (CLIFFORD et al., 1996). Este é o primeiro relato de galato de etila em plantas do gênero Euphorbia.

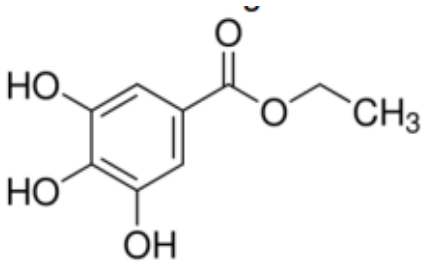

Figura 1: Estrutura molecular do galato de etila, compostos isolado de *Euphorbia cotinifolia*.

Dados da literatura têm demonstrado que compostos fenólicos como os galatos possuem diversas propriedades biológicas, como efeito antioxidante (HAWAS, 2007; ZHANG et al., 2008), atividades antiparasitária (CALDERON et al., 2006), anticâncer (KIM et al., 2012), antimicrobiana (SHIBATA et al., 2005) e na prevenção de choque séptico (GOTES et al., 2012).

CONCLUSÕES

Foi possível concluir que o extrato etanólico de folhas de *Euphorbia cotinifolia* apresentou atividade antimicrobiana. Do fracionamento do extrato, obteve-se a fração acetato de etila, também biotiva. A sua purificação por cromatografia em

coluna flash permitiu que se isolasse a substância galato de Etila, que também demonstrou atividade antimicrobiana contra *M. luteus* e *S. aureus*. Sendo assim, *Euphorbia cotinifolia* pode ser considerada um produto natural fonte de compostos bioativos, cuja composição química pode ser utilizada como modelo para desenvolvendo de novas drogas antimicrobianas.

REFERÊNCIAS

BAILEY, L. H. Manual of Cultivated Plants, Revised edition. **McMillan**, New York, v. 1, p. 88, 1949.

BITU, V. et al. Phythochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracillis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 69-75, 2012.

CALDERON, A. I. et al. Evaluation of larvicidal and in vitro antiparasitic activities of plants in a biodiversity plot in the Altos de Campana National Park, Panama. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 7, p. 487-498, out 2006.

CLIFFORD, A. J. et al. Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid-based diet supplemented with red wine solids. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 748-56, nov 1996.

CLSI. **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico**: Norma Aprovada - Sexta Edição. *Norma M7-A6*. Vol. 23., 2005.

DEPEINT, F. et al. Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 61, p..97-103, 2002.

GAO, S. et al. LC-MS/MS method for the simultaneous determination of ethyl gallate and its major metabolite in rat plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 24, n. 5, p. 472-8, maio 2010.

GOTES, J. et al. Benefits of ethyl gallate versus norepinephrine in the treatment of cardiovascular collapse in *Pseudomonas aeruginosa* septic shock in dogs. **Critical Care Medicine**, v. 40, n. 2, p. 560-72, fev 2012.

HAWAS, U. W. Antioxidant activity of brocchlin carboxylic acid and its methyl ester from *Chrozophora brocchiana*. **Natural Products Research**, v. 21, n. 7, p. 632-40, jun 2007.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some slants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

KIM, W. H. et al. Ethyl Gallate Induces Apoptosis of HL-60 Cells by Promoting the Expression of Caspases-8, -9, -3, ApoptosisInducing Factor and Endonuclease G. **International Journal of Molecular Science**, v. 13, n. 9, p. 11912-22, 2012.

KOSTALOVA, D. et al. Polyphenol compounds from *Hamamelis virginiana L.* **Ceská a Slovenská Farmacie**, v. 50, n. 1, p. 51-3, jan 2001.

MEHLA, K. et al. Ethyl gallate attenuates acute lung injury through Nrf2 signaling. **Biochimie**, v. 95, n. 12, p. 2404-14, dez 2013.

MORTAN, J.F. Ornamental plants with toxic and/or irritant properties II. **Florida State Horticultural Society**, p. 484-488, 1962.

QIN, R. D. et al. Phenolic acid derivatives from *Alchornea trewioides*. **Yao Xue Xue Bao**, v. 47, n. 7, p. 926-9, jul 2012.

SANTOS, A. R. et al. The involvement of K+ channels and Gi/o protein in the antinociceptive action of the gallic acid ethyl ester. **European Journal of Pharmacology**, v. 379, n. 1, p. 7-17, ago 1999.

SHIBATA, H. et al. Alkyl gallates, intensifiers of beta-lactam susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 549-55, fev 2005.

SINGLA, A.K.; PATHAK, K. Phytoconstituents of *Euphorbia species*. **Fitoterapia**, v. 61, p. 483-516, 1990.

RIBEIRO, G. E. Triagem fitoquímica, atividade antimicrobiana, antioxidante e citotoxicidade de extratos hidroetanólicos de *Euphorbia cotinifolia* (Leiteiro vermelho). 2014. 65p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG.

JAYALAKSHMI, B et al. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Euphorbia cotinifolia* Linn. leaf extracts against phytopathogenic bactéria. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 10, p. 3759 - 3762, 2011.

ZHANG, W. K. et al. Chemical constituents with antibacterial activity from *Euphorbia sororia*. **Natural Products Research**, v. 22, n.4, p. 353-359, Mar. 2008.